

УДК 577.112.083

Е. А. Рогожин^{1,2}, А. С. Барашкова^{1,2},
Д. Ю. Рязанцев¹, С. К. Завриев¹

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук,
117997, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10,
rea21@list.ru

²Институт экологической и сельскохозяйственной
биологии (Х-Bio), Тюменский государственный университет,
625003, Россия, г. Тюмень, ул. Володарского, 6,
e.a.rogozhin@utmn.ru
barashkova.an@gmail.com

ВЫЯВЛЕНИЕ ГОМОЛОГОВ ГЕВЕИНО-ПОДОБНЫХ ЗАЩИТНЫХ ПЕПТИДОВ СЕМЕЙСТВА WAMP В ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКАХ: РАЗНООБРАЗИЕ, СТРУКТУРНЫЙ АСПЕКТ И СПЕКТР БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Ключевые слова: врожденный иммунитет растений, антимикробные пептиды, 10-цистеиновый мотив, дикорастущие злаки, первичная структура.

Хорошо известно, что грибные болезни растений представляют собой один из экономически значимых факторов, который приводит к потерям урожая сельскохозяйственных культур, и снижению его качества. Для подавления роста и распространения болезней культурных растений в сельском хозяйстве наиболее широко применяются химические средства защиты растений (пестициды). В конечном итоге это приводит к повышению содержания остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, а также их накоплению в агробиоценозах. Так, в 2018 в России было использовано 65,1 тыс. т пестицидов. Из этого объема 97,6% пришлось на химические средства защиты растений (63,5 тыс. т). Биологические методы защиты также применяются для борьбы с болезнями растений. Они гораздо безопасней и не приводят к накоплению токсичных веществ, однако на их долю в 2018 г пришлось 2,4% (1,6 тыс. т).

Антимикробные пептиды (АМП) – важнейшие компоненты конститутивного и индуцированного иммунитета растений к биотическим стрессовым факторам окружающей среды. Они выступают как объект фундаментальных исследований, а также представляют интерес с прикладной точки зрения. Последний аспект обусловлен, в частности, их потенциальной привлекательностью как прототипов так называемых биологических средств защиты растений «нового поколения», основу которых составляют эффективные и достаточно легко разлагаемые метаболиты природного происхождения.

Геveiно-подобные защитные пептиды принимают участие в иммунном ответе растений на фитопатогенные грибы и насекомых-вредителей. Их защитные свойства преимущественно обусловлены связыванием с хитином. Однако описаны альтернативные биологические эффекты, например, специфическое неконкурентное ингибирование протеолитических ферментов – молекулярных факторов вирулентности фитопатогенов. В рамках настоящего исследования был осуществлен скрининг белково-пептидных экстрактов (БПЭ), полученных из семян ряда дикорастущих злаков на содержание гомологов

ранее охарактеризованной группы подсемейства WAMP («wheat antimicrobial peptides») из пшеницы (*Triticum kiharae*) [1]. Для представителей данной группы ранее было показано наличие транскрибирующихся генов-гомологов антимикробного пептида WAMP-1a, содержащих единственную вариабельную замену в 34 положении полипептидной цепи, которая не затрагивает участок хитин-связывающего домена [2]. Данные гены показали достоверно возрастание уровня транскрипционной активности в ответ как на действие биотического стресса (заражение фитопатогенными грибами), так и абиотические воздействия (аппликация фитогормонами и тяжелыми металлами) [3].

В ходе данной работы были получены БПЭ следующих видов дикорастущих злаков: ежовник обыкновенный (*Echinochloa crusgalli*), пырей ползучий (*Agropyron repens*), пырей удлинённый (*Elytrigia elongata*), ежа сборная (*Dactylus glomerata*) и тимopheевка луговая (*Phleum pratense*). В результате в трех из пяти представленных вариантов были выявлены так называемые WAMP-подобные АМП, которые были идентифицированы N-концевым автоматическим секвенированием по методу Эдмана. Интересно, что для вида *A. repens* ранее сообщалось о наличии функциональных транскриптов генов, гомологичных белкам-предшественникам WAMP и названных ERAMP1, ERAMP2 и ERAMP3 [4].

Стоит отметить, что для одного из пептидов, выделенного из *E. crusgalli*, названного EAMP («echinochloa antimicrobial peptide»), была установлена полная первичная структура, которая позволила локализовать наличие трех замен аминокислотных остатков относительно референсной структуры WAMP-1a. Был получен его рекомбинантный аналог методом гетерологической экспрессии в прокариотической системе: исследована степень его связывания с различными модельными углеводными полимерами – компонентами клеточных стенок грибов *in vitro*, определена антибактериальная активность и получена флуоресцентная производная с NHS BDP FL для дальнейшего определения механизма антимикробного действия, не связанного с интеграцией с хитином, на клеточном уровне.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 18-74-10073.

Список литературы

1. Odintsova T. I., Vassilevski A. A., Slavokhotova A. A. et al. // FEBS J. 2009. Vol. 276(15). P. 4266–4275.
2. Andreev Y. A., Korostyleva T. V., Slavokhotova A. A. et al. // Biochimie. 2012. Vol. 94. P. 1009–1016.
3. Истомина Е. А., Коростылева Т. В., Рожнова Н. А. et al. // Генетика. 2016. Т. 52. № 11. С. 1300–1310.
4. Slezina M. P., Korostyleva T. V., Slavokhotova A. A. et al. // Russian Journal of Genetics. 2018. Vol. 54. P. 1152–1159.